#5

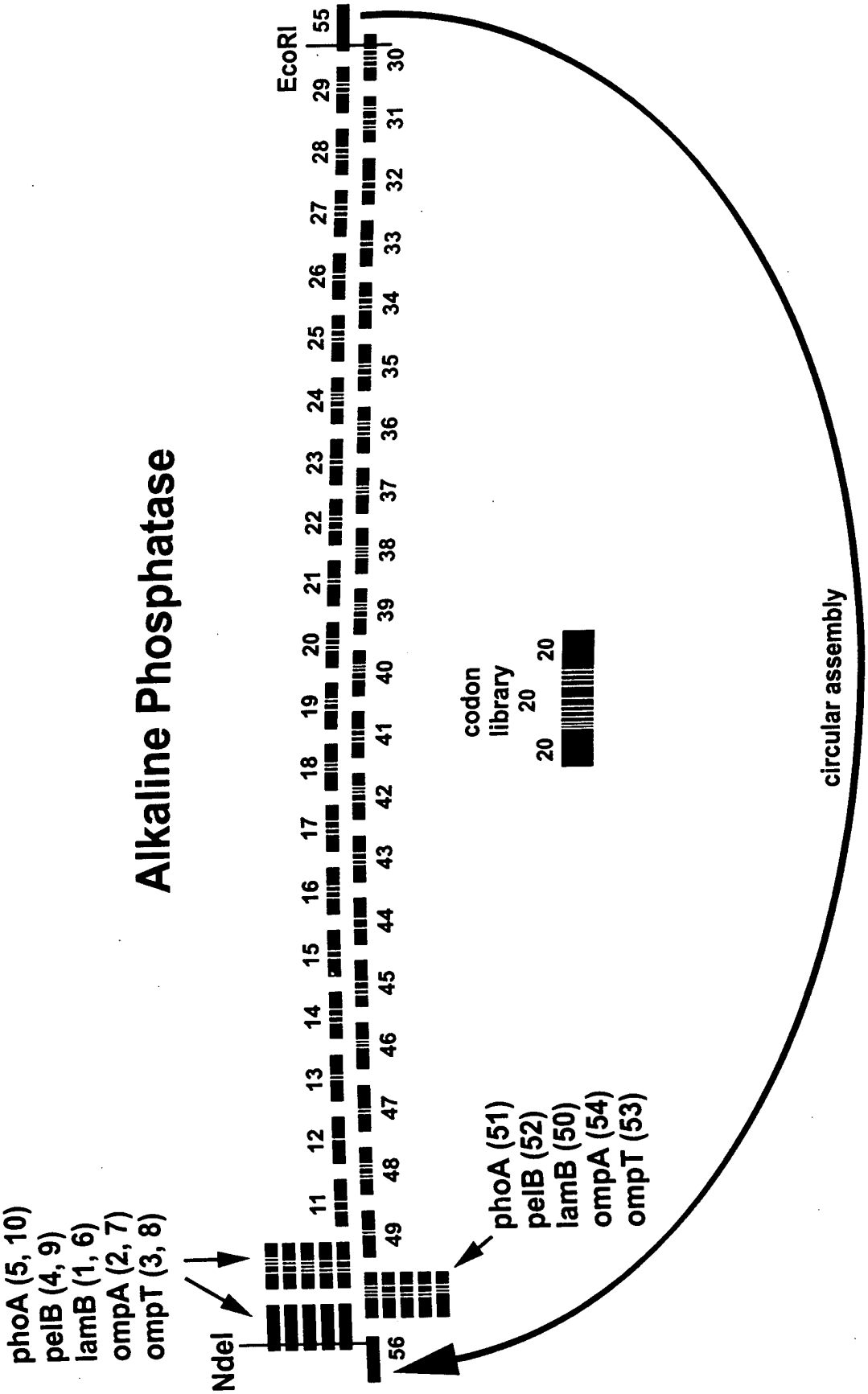
Alkaline Phosphatase
EcoRI
NdeI
phoA (5, 10)
pelB (4, 9)
lamB (1, 6)
ompA (2, 7)
ompT (3, 8)
codon library
20
20
20
phoA (51)
pelB (52)
lamB (50)
ompA (54)
ompT (53)
circular assembly

Figure 1

Interferon Figures

Protein sequences of interferon alphas to be shuffled

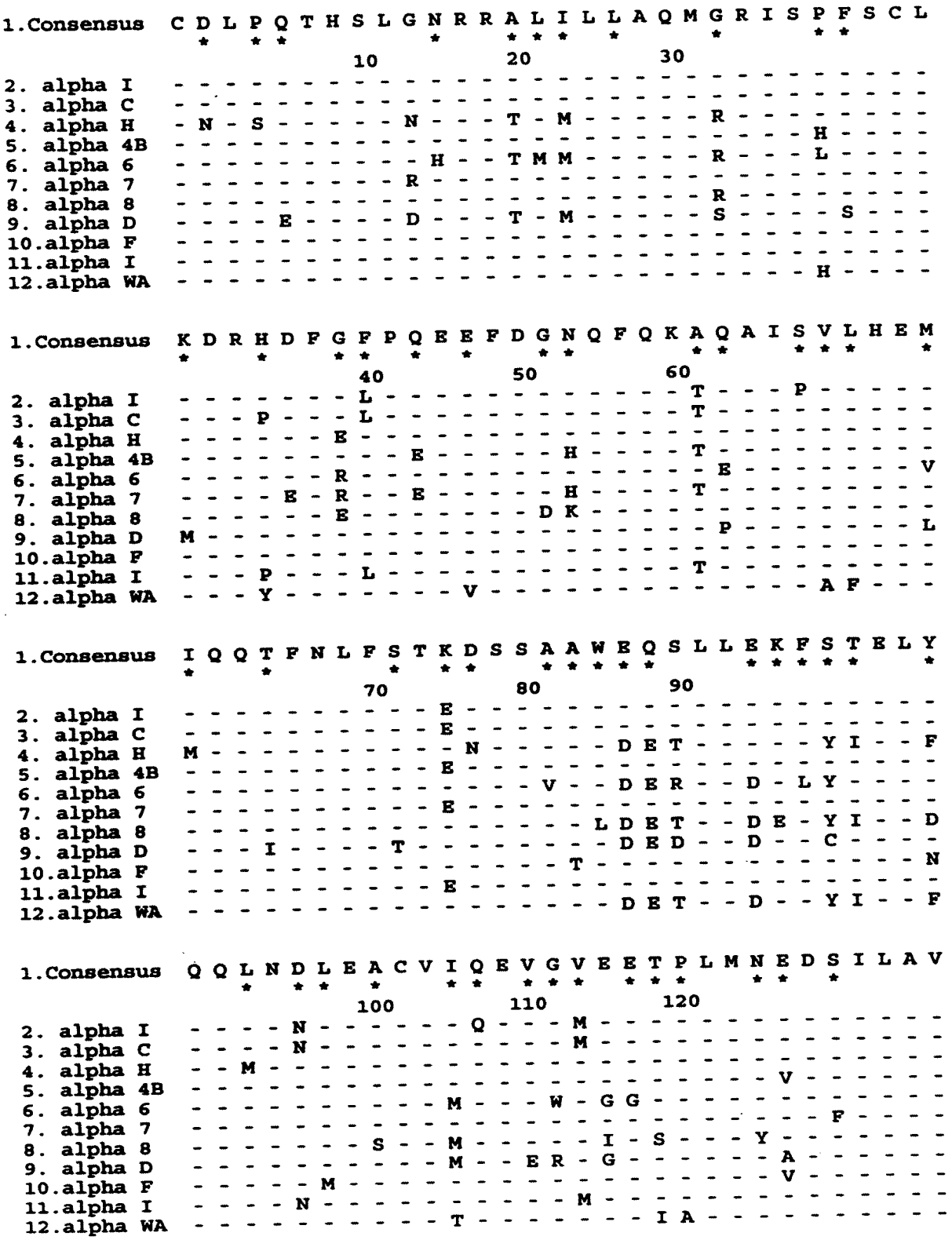

Figure 2A

1.Consensus	R	K	Y	F	Q	R	I	T	L	Y	L	T	E	K	K	Y	S	P	C	A	W	E	V	V	R	A	E	I	M	R
	*				*							*	*					*												
								130						140						150										
2. alpha I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. alpha C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. alpha H	K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5. alpha 4B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. alpha 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7. alpha 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8. alpha 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. alpha D	K	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10.alpha F	K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.alpha I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.alpha WA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1.Consensus	S	L	S	F	S	T	N	L	Q	K	R	L	R	R	K	D		SEQ	ID	NO:	75						
		*		*		*	*	*	*	*	*		*	*														
										160																		
2. alpha I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		SEQ	ID	NO:	76						
3. alpha C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	-	-	-	-	-		SEQ	ID	NO:	77						
4. alpha H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		SEQ	ID	NO:	78						
5. alpha 4B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		SEQ	ID	NO:	79						
6. alpha 6	-	F	-	S	-	R	-	-	-	E	-	-	-	-	-	E		SEQ	ID	NO:	80						
7. alpha 7	-	F	-	-	-	-	-	-	K	-	G	-	-	-	-	-		SEQ	ID	NO:	81						
8. alpha 8	-	F	-	L	-	I	-	-	-	-	-	-	K	S	-	E		SEQ	ID	NO:	82						
9. alpha D	-	-	-	L	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	E		SEQ	ID	NO:	83						
10.alpha F	-	F	-	L	-	K	I	F	-	E	-	-	-	-	-	E		SEQ	ID	NO:	84						
11.alpha I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	-	-	-	-	-		SEQ	ID	NO:	85						
12.alpha WA	-	F	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-		SEQ	ID	NO:	86						

Figure 2B

DNA sequences of interferon alphas to be shuffled

```
1.Consensus  T G T G A T C T G C C T C A G A C C C A C A G C C T G G G T

                          10          20          30
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - A - - - - - T - - - - A - - - - - - - - - - - A A - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - C - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - - T - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - - - - - - - C - - - G - - - - - - - - - - - - - - - A -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - - - T - - - - - - - - - - -

1.Consensus  A A T A G G A G G G C C T T G A T A C T C C T G G C A C A A A

                          40          50          60
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - C - - - - - - A - T - - - - - G - - - A - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   C - C - - - - - - A - - A - - - - G - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - C - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - C - - - - - - A - - - - - - - G - - - - - - - - - - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

1.Consensus  A T G G G A A G A A T C T C T C C T T T C T C C T G C C T G

                          70          80          90
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - A - G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - - A - G - - - - - - - - - - - T - - - - - - - - T - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - T - -
8. alpha 8   - - - C - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - - A - C - - - - - - - - - - - - C - - - - - - T - - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - - -

1.Consensus  A A G G A C A G A C A T G A C T T T G G A T T T C C C C A G

                          100         110         120
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - C - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - C - - - - - - - - - - C - - - - - - - -
4. alpha H   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - T - - C - - - - - C - - - G - -
6. alpha 6   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - C A - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - A - - C A - - - - C - - A G - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - C - - - - - -
9. alpha D   - T - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - C - - - - - A
11.alpha I   - - - - - - - - - - C - - - - - - - - - - - - C - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - T - - - - T - - C - - - - - C - - - - - -
```

Figure 2C

```
1.Consensus  G A G G A G T T T G A T G G C A A C C A G T T C C A G A A G

                          130         140         150
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - - - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - C - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - C - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - A T - - A - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - T - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

1.Consensus  G C T C A A G C C A T C T C T G T C C T C C A T G A G A T G

                          160         170         180
2. alpha I   A - - - - - - - - - - - - C - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - - G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - G - -
7. alpha 7   A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - - - C - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - C - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - C - T - - - - - - - - - - -

1.Consensus  A T C C A G C A G A C C T T C A A T C T C T T C A G C A C A

                          190         200         210
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - T - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - C - - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - - - - - - - - - T - - - - - - C - - - - - - T C - - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

1.Consensus  A A G G A C T C A T C T G C T G C T T G G G A T G A G A G C

                          220         230         240
2. alpha I   G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A C - - - - -
3. alpha C   G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A C - - - - -
4. alpha H   - - - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - C -
5. alpha 4B  G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A C - - - - -
6. alpha 6   - - - - - - - - - - - - - T - - - - - - - - - - - - - - - G
7. alpha 7   G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A C - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - T - - - - - - - C -
9. alpha D   - - A - - T - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - G A -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - A C - - - -
11.alpha I   G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A C - - - -
12.alpha WA  - - - - - T - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - C -
```

Figure 2D

```
1.Consensus  C T C C T A G A A A A T T T T C C A C T G A A C T T T A C

                          250         260         270
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - - - - - - - - - - - - - - C - A - - T - - - - - - - T -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - T - - - - - C - - - C - C - A T - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - T - - - - - T G - - - - C - A - - T C - - - - - - G - -
9. alpha D   - - - - - - - - - C - - - - - C - G - - - C - - - - - C - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - C - - - - - C - A - - T - - - - - - - T -

1.Consensus  C A G C A A C T G A A T G A C C T G G A A G C C T G T G T G

                          280         290         300
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - A - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - A - - - - - -
4. alpha H   - - - - - - - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - -
6. alpha 6   - - - - - - G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - G - - - - - - - - - - - - - - - - G T - - - - - - -
9. alpha D   - - - - - - G - - - - - - - - - T - - - - - - - - - - - - - -
10.alpha F   - - - - - - G - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - C - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - A - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - -

1.Consensus  A T A C A G G A G G T T G G G G T G G A A G A G A C T C C C

                          310         320         330
2. alpha I   - - - G - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - G - - - - - - - - - G T - - - - - G - - G - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - G - - - - - - A - - G - - - - - - A T - - - - T - - - - -
9. alpha D   - - G - - - - - - - - A G A - - - - - - G - - - A - - - - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - C - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - T - G - -

1.Consensus  C T G A T G A A T G A G G A C T C C A T C C T G G C T G T G

                          340         350         360
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - T - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - T - - - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - - - - - - T - C - C - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - T - - - - - - - - - - T - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - T - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
```

```
1.Consensus  A G G A A A T A C T T C C A A A G A A T C A C T C T T T A T

                                370         380         390
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - C - - C
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - -
9. alpha D   - A - - - - - - - - - - - - A - - - - - - - - - - - - C - - -
10.alpha F   - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - T - - - - - - - - - - - - - - - - -

1.Consensus  C T G A C A G A G A A G A A A T A C A G C C C T T G T G C C

                                400         410         420
2. alpha I   - - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - - T G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - - - - - - - - - - - A - - G - - - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - A - T G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - T - - - - - - -
9. alpha D   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - T
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - A - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - T G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

1.Consensus  T G G G A G G T T G T C A G A G C A G A A A T C A T G A G A

                                430         440         450
2. alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
11.alpha I   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

1.Consensus  T C C T T C T C T T T T T C A A C A A A C T T G C A A A A A

                                460         470         480
2. alpha I   - - - C - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
3. alpha C   - - T C - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
4. alpha H   - - - C - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
5. alpha 4B  - - - C - - - - G - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
6. alpha 6   - - - - - - - - - - C A - - - - G - - - - - - - - - - G - -
7. alpha 7   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - A - - -
8. alpha 8   - - - - - - - - - - A - - - - T C - - - - - - - - - - - - -
9. alpha D   - - - C - - - - - - A - - - - - - - - - - - - - - - - G - -
10.alpha F   - - - - - - - - - - A - - - - A - - T T - - T - - - G - -
11.alpha I   - - T C - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
12.alpha WA  - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
```

Figure 2F

1.Consensus	A	G	A	T	T	A	A	G	G	A	G	G	A	A	G	G	A	T	T	G	A	SEQ ID NO: 87	
								490						500									
2. alpha I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 88	
3. alpha C	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 89	
4. alpha H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 90	
5. alpha 4B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 91	
6. alpha 6	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	A	-	A	-	SEQ ID NO: 92	
7. alpha 7	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 93	
8. alpha 8	-	-	-	-	-	G	-	A	-	-	-	T	-	-	-	-	-	A	-	-	-	SEQ ID NO: 94	
9. alpha D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	-	SEQ ID NO: 95	
10.alpha F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	SEQ ID NO: 96	
11.alpha I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 97	
12.alpha WA	G	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 98	

Figure 2G